

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

CT/EP 98 / 06547

EP 98 / 6547
09/50555 EJU
EPO - DG 1

25. 11. 1998

PRIORITY DOCUMENT



SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Bescheinigung

REC'D	07 DEC 1998
WIPO	

Herr Professor Dr.med.Dr.h.c. Wolf-Georg F o r s s m a n n
in Hannover/Deutschland hat eine Patentanmeldung unter der
Bezeichnung

"Humaner zirkulierender Osteoblasten-Cadherin
Derived Growth Factor sowie aus der Prosequenz
abgeleitete Cadherin Derived Growth Factor-
Domänen und ihre Verwendung"

am 15. Oktober 1997 beim Deutschen Patentamt eingereicht.

Das angeheftete Stück ist eine richtige und genaue Wieder-
gabe der ursprünglichen Unterlage dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patentamt vorläufig die Sym-
bole C 07 K, A 61 K und C 12 N der Internationalen Patent-
klassifikation erhalten.

München, den 27. Oktober 1998

Der Präsident des Deutschen Patentamts

Im Auftrag


Joost

Aktenzeichen: 197 45 284.1

511 5466101

Beschreibung:

Der OB-CDGF konnte mit Hilfe eines biologischen Assays aus humanem Hämofiltrat isoliert werden. Das Peptid besitzt eine Molekularmasse von 3062.8 Da. Die OB-CDGF Sequenz ist eine ganz neue Substanz. Bistlang wurde über die Analyse einer cDNA eine OB-Cadherin Precursor-Sequenz postuliert. In dieser aus der cDNA abgeleiteten Sequenz findet sich die erfindungsgemäße Peptidsequenz direkt hinter der putativen Signalsequenz (siehe Abbildung 1). Die OB-Cadherine sollen, wie in der Literatur postuliert (J. Biol. Chem., Vol. 269, Nr. 16, Seiten 12092-12098), eine wichtige Funktion bei der Knochenzelldifferentierung und der Knochenbildung besitzen. Die biochemische Charakterisierung des erfindungsgemäßen Peptides erfolgte durch Massenspektrometrie und Sequenzierung des gesamten Peptides. Die Sequenzanalyse des biologisch aktiven Peptides ergab die Aminosäuresequenz für OB-CDGF:

ERRGHLRPSFHGHHEKGKEGQVLQRS

Im ESI (Elektrospray Ionisation)-Massenspektrum des OB-CDGF wurde die Molekularmasse (MW) bestimmt mit:

OB-CDGF, MW 3062.8 Da

Das erfindungsgemäße Peptid ist durch ein Reinigungsverfahren ausgehend von humanem Hämofiltrat erhältlich. Dieses patentierte Verfahren (Forssmann, W.G. 1988; Offenlegungsschrift DE 36 33 707 A1), welches für die Gewinnung von Eiweißstoffen aus Hämofiltrat erfunden wurde, wurde in einer verfeinerten Form durchgeführt, wie im weiteren ausgeführt. Hämofiltrat fällt bei der Ultrafiltration des Blutes von Nierenkranken in großen Mengen an.

Das humane Hämofiltrat wird gegebenenfalls mit Wasser verdünnt und angesäuert. Der pH-Wert beträgt vorzugsweise 1.5 bis 3.5, insbesondere 2.5 bis 3.0. Danach wird das Hämofiltrat über einen Kationenaustauscher geleitet, beispielsweise einem mit Sulfonsäuregruppen modifizierenden Trägermaterial (Fraktogel SP-650 (M), Merck, Darmstadt). Die an den Kationenaustauscher gebundenen Peptide werden mit einer relativ hoch konzentrierten Salzlösung eluiert. Die Ionenstärke der Elutionslösung entspricht dabei ungefähr einer 0.5 bis 1 molaren Ammoniumacetatlösung.

49 511 5466101

Das aufgefangene Eluat wird einer weiteren Kationenaustauscher-Chromatographie unterzogen. Diese Chromatographie ist vorzugsweise eine Stufenelution mit Puffern von ansteigenden pH-Werten.

Die das erfindungsgemäße Peptid enthaltenen Fraktionen werden mittels präparativer Umkehrphasen-Chromatographie und nachfolgender semipräparativer Umkehrphasen-Chromatographie beispielsweise an mit C4 modifizierten Trägermaterialien weitergereinigt. Der Aufreinigungsgrad wird vorzugsweise mittels analytischer Umkehrphasen-Chromatographie beispielsweise an mit C18 modifizierten Trägermaterialien überprüft.

Die durch die chromatographische Reinigung erhaltene Substanz wurde der Strukturaufklärung zugeführt. Die Bestimmung der Molekülmassen des nativen Peptids erfolgte mittels eines Elektrospray-Massenspektrometers. Die Sequenzanalyse erfolgte über einen Edman-Abbau der Peptide sowie von chemisch modifizierten Derivaten mit einem ABI 473 A Sequenzer.

Die Totalsynthese erfolgte an üblichen Festphasen im Sinne der Merrifield-Synthese. Die Synthesestrategie und der Aufbau des Peptids und von ihm abgeleiteten Derivaten mit den entsprechend geschützten Aminosäuren sind dem Fachmann bekannt.

Das OB-CDGF allein, sowie seine cDNA, sein Gen und Analoga, Fragmente und Derivate zu dem Peptid, der cDNA und dem Gen sowie Antikörper, welche die Wirkung des OB-CDGF aufheben, können als Arzneimittel Verwendung finden. Seine biologische Aktivität entspricht der zellproliferativen und zelldifferenzierender Substanzen, ähnlich der bekannter Wachstumsfaktoren.

Für das OB-CDGF ist insbesondere von einer wachstumsfördernden Wirkung auf Knochenzellen auszugehen.

Das erfindungsgemäße Peptid kann dabei in für Peptide üblicher Weise parenteral, intravenös, intramuskulär, intranasal, lokal-topisch oder bukal verabreicht werden. Die Menge an zu verabreichendem Peptid beträgt 1 µg bis 1 g pro Darreichungseinheit pro Tag. Die Wirkung des erfindungsgemäßen Peptids kann durch Gabe geeigneter Inhibitoren/Antagonisten gehemmt werden.

Das erfindungsgemäße Diagnostikum enthält poly- oder monoklonale Antikörper gegen das erfindungsgemäße Peptid gegebenenfalls in fluoreszenz- oder radioaktiv-markierter Form, um in einem an sich bekannten ELISA oder RIA eingesetzt zu werden. Das

49 511 5466,10.1

13.08.97 10:33 NF.018 B.Ub

erfindungsgemäße Diagnostikmittel enthält DNA, RNA und/oder PNA gegebenenfalls in modifizierter und/oder markierter Form zum Einsatz in dem Fachmann bekannten Testsystemen wie PCR oder Fingerprinting.

Die Erfindung wird anhand der folgenden Beispiele näher beschrieben.

Beispiel 1

Hämofiltrat-Batch-Extraktion

800 bis 1.000 L Hämofiltrat werden mit HCl auf einen pH-Wert von 2.7 eingestellt und mit Wasser auf eine Leitfähigkeit von 5.5 mS/cm verdünnt und mit einer Flußrate von 3 L/min auf einen starken Kationenaustauscher aufgetragen.

Chromatographiebedingungen:

Säule: Vantage VA 250 (Amicon, Witten)
Säulenmaterial: Fractogel TSK SP 650 (M), 25 cm x 20 cm
Fluß: 3 L/min
Detektion: 280 nm, pH, Leitfähigkeit
Puffer A: Hämofiltrat pH 2.7, Leitfähigkeit 5.5 mS/cm
Puffer B: 0.5 M Ammoniumacetat
Anlage: Autopilot Chromatographiesystem, (PerSeptive Biosystems, Wiesbaden)

Nach Auftrag der insgesamt 1.000 L Flüssigkeit über Nacht wird mit mehreren Säulenvolumina 5 mM HCl gespült. Die Elution der gebundenen Peptide erfolgt als Batch-Elution mit 0.5 M Ammoniumacetat. Hierbei wird eine komplette Elution der Peptide über steigenden pH-Wert (6.8 - 7.2) und steigende Leitfähigkeit (56 mS/cm) in etwa 5 L Eluat erreicht.

Erste präparative Auftrennung

Die Ammoniumacetat-Eluat der Batch-Extraktion werden in Mengen von 5.000 bis 10.000 L Hämofiltrat-Peptid vereinigt. Nach pH-Einstellung auf 2.7 wird das Peptidextrakt unter Zumischung von VE-Wasser mit einer Leitfähigkeit von 5.5 mS/cm auf den präparativen Kationenaustauscher aufgetragen.

Chromatographiebedingungen:

Säule: Vantage 250 VA
Säulenmaterial: Fractogel TSK SP 650 (M), 25 cm x 20 cm
Fluß: bis zu 3 L/min während des Auftrages
0.5 bis 1 L während der Elution

49 511 5466101

Detektion: 280 nm, pH, Leitfähigkeit
Probe: Hämofiltrat pH 2.7, Leitfähigkeit 5.5 mS/cm
Anlage: Autopilot Chromatographiesystem, (PerSeptive
Biosystems, Wicsbaden)

Nach Auftrag des Rohextraktes über 240 min wird die Säule mit 0.01 M HCl gespült, bis die Leitfähigkeit unter 1 mS/cm ist. Die Elution erfolgt dabei in mehreren Stufen mit den im folgenden angegebenen Puffern

Puffer	pH-Wert	Puffersubstanzen	Leitfähigkeit (mS/cm)
Waschpuffer:	2.0	0.01 M HCl	1
Elutionspuffer 1:	3.6	0.1 M Zitronensäure-1-hydrat	2.9
Elutionspuffer 2:	4.5	0.1 M Essigsäure + 0.1 M Natriumacetat	4.0
Elutionspuffer 3:	5.0	0.1 M Äpfelsäure	6.2
Elutionspuffer 4:	5.6	0.1 M Bernsteinsäure	6.1
Elutionspuffer 5:	6.6	0.1 M NaH ₂ PO ₄	4.9
Elutionspuffer 6:	7.4	0.1 M NaH ₂ PO ₄	6.7
Elutionspuffer 7:	9.0	0.1 M Ammoniumcarbonat	6.7

Die Eluate 1-7 werden als pH-Pool I-VII bezeichnet. Sie werden separat gesammelt und abschließend mit VE-Wasser gespült. Die Elution erfolgt bis zum Erreichen einer neuen Basislinie, wobei für die einzelnen pH-Pools I bis VII Elutionsvolumina von 10 bis 25 L erreicht werden.

Zweite präparative Auftrennung:

Die einzelnen pH-Pools werden zur Fraktionierung und gleichzeitigen Entsalzung über eine Reversed Phase Chromatographie getrennt

Chromatographiebedingungen:

Säule: FineLine 100 (Pharmacia, Freiburg)
Säulenmaterial: Source RPC, 15 µm
10 x 12.5 cm (FineLine 100)
Fluß: 150 mL/min (FineLine 100)
Detektion: 280 nm, Leitfähigkeit, pH
Puffer A: 10 mM HCl
Puffer B: 80% Acetonitril in 10 mM HCl
Gradient: 0-60% Puffer B in 5 Säulenvolumen

Nach Auftrag der pH-Pools wird die Säule mit Puffer A gespült. Während der Elution werden Fraktionen zu 200 ml gesammelt. Aliquots der Fraktionen werden im Bioassay getestet. Die Fraktionen werden gefriergetrocknet und bei -20°C gelagert.

Semipräparative Reverse-Phase C18-Chromatographie:

Die im Assay bioaktive Fraktion 13 aus pH-Pool VI wurde über eine ~~semipräparative Reverse-Phase Säule~~ aufgetrennt. Die Fraktionen 5-7 enthielten die erfindungsgemäße Substanz.

Chromatographiebedingungen:

Säule: 4,7 cm x 30 cm Stahlsäule
Füllmaterial: Vydac RP-C18 15-20 μ m, 300 Å
Puffer A: 0,1 % TFA
Puffer B: 0,1 % TFA, 80 % Acetonitril
Gradient: 5 - 50% B in 45 min, 50 - 100% B in 10 min
Fluß: 42 ml/min
Detektion: 214 nm und 280 nm
Chromatographieranlage: BioCad
Fraktionen: á 1.5 min ab Start des Gradienten

Beispiel 2

Massenbestimmungen

Alle Massenbestimmungen der nativen und synthetischen Peptide wurden auf einem Elektrospray-Massenspektrometer (ESI-MS) durchgeführt. Die Molekülmassen des Peptids wurden entsprechend der oben gezeigten Massenzahlen (MW) bestimmt.

Sequenzbestimmung

Das aufgereinigte, native und das synthetisch hergestellte Peptid wurde mittels Edman-Abbau auf einem ABI 473 A Sequenzer unter Verwendung des Standard-Programms analysiert. Die Proben werden auf eine Polybrene-Membran in Mengen zwischen 100 und 400 pmol aufgetragen. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Massenbestimmungen ergab sich folgende Aminosäuresequenz:

ERRGHLRPSFHGHHEKGKEGQVLQRS

Datenbankvergleich

Ein Datenbankvergleich wurde mit Hilfe des HUSAR-Programmpakets an den SwissProt und EMBL-Nukleinsäure Datenbanken durchgeführt. Die Sequenz entspricht den aus der cDNA abgeleiteten Aminosäuren des humanen Cadherin-11 Precursors (Osteoblasten Cadherin, Propeptid, Aminosäuren 26-51).

Resynthese

Die Synthese des Peptids mit der Sequenz ERRGHLRPSFHGHHEKGKEGQVLQRS wurde nach der Merrifield-Festphasen-Methode ausgehend von geschützten Fmoc-Aminosäuren durchgeführt. Das synthetische Peptid wurde über Umkehrphasen-Chromatographie aufgereinigt. Die Identität und Reinheit der Substanz wurde mit Hilfe von Massenspektrometrie, Sequenzanalyse und Kapillarzonenoelektrophorese nachgewiesen.

Beispiel 3

Bestimmung der biologischen Aktivität von OB-CDGF

Die Isolierung des OB-CDGF erfolgte anhand seiner biologischen Aktivität in einem Proliferationsassay der ROSA/2.8 (Rattenosteosarkom)-Zelllinie. Dazu wurden jeweils Aliquots der unter Beispiel 1 beschriebenen einzelnen Chromatographiestufen gefriergetrocknet und anschließend dem biologischen Assay zugeführt. Die Fraktionen, die jeweils ein positives Signal ergaben, wurden der weiteren Aufreinigung unterzogen.

Der Assay mißt die Proliferation der Zellen, nachdem sie für 24 Stunden in 0.1 %igem serumhaltigen Medium gehalten wurden, dann die Proben zugegeben wurden und nach weiteren 48 Stunden die Aktivität mitochondrialer Enzyme bestimmt wird. Als Positiv-Kontrolle wird in diesem Assay knochenwachstumsfördernde Faktoren wie IGF oder Angiotensin oder fötales Kälberserum (FCS) eingesetzt.

In 96 Loch-Platten werden 5.000 ROSA/2.8 Zellen pro Loch in 0.1 %igem serumhaltigem Medium ausgesät. Nach 24 Stunden erfolgt die Zugabe von Aliquots (ca. 100 µl Äquivalent des Ausgangsmaterials) in die Wells. Weitere 48 Stunden später wird die Proliferationsrate der Zellen mittels eines Wst-1 Substrats gemessen. Dieses Substrat wird von mitochondrialen Enzymen umgesetzt. Die entstehende Farbstoffintensität wird bei 405 nm im ELISA - Reader gemessen, die Referenzwellenlänge liegt dabei bei über 600 nm.

Der OB-CDGF besitzt in dosisabhängiger Weise eine wachstumsfördernde Wirkung auf ROSA/2.8 Zellen. Diese Zellen sind typische Knochenzellen, so daß man davon ausgehen kann, das OB-CDGF ein osteoanaboler Faktor ist. Diese biologische Wirkung wurde sowohl für das native als auch für das synthetisch hergestellte Peptid nachgewiesen.

Patentansprüche

1. Das native Peptid mit nachfolgender Aminosäuresequenz:

ERRGHLRPSFHGHHEKGKEGQVLQRS

sowie deren biologisch aktive Fragmente und/oder Derivate, insbesondere amidierter, acetylierter, sulfatierter, phosphorylierter und/oder glykosylierter Derivate, sowie die durch multiple Synthese darstellbaren Peptide

2. Die Peptide, die in Analogie zu OB-CDGF aus anderen Cadherinen entstehen und deren Sequenzbereich jeweils der in der Abbildung 1 gezeigten CDGF-Region entsprechen. Im einzelnen sind dies die in der Abbildung 1 gezeigten Sequenzen sowie ihre in Hämofiltrat befindlichen trunktierten Sequenzen.
3. isoliertes Polynukleotide kodierend für OB-CDGF und für die Peptide nach Anspruch 2 und/oder deren Fragmente, Derivate und Analoga.
4. Polynukleotide nach Anspruch 3 dadurch gekennzeichnet, daß das Polynukleotid aus DNA aufgebaut ist.
5. Polynukleotide nach Anspruch 3 dadurch gekennzeichnet, daß das Polynukleotid aus RNA aufgebaut ist.
- Polynukleotide nach Anspruch 3 dadurch gekennzeichnet, daß das Polynukleotid aus genomischer DNA aufgebaut ist.
7. Polynukleotide nach Anspruch 3 dadurch gekennzeichnet, daß das Polynukleotid aus PNA aufgebaut ist.
8. Polynukleotide nach Anspruch 3 dadurch gekennzeichnet, daß das Polynukleotid für die Peptide aus Anspruch 1 kodiert.
9. Ein Vektor enthaltend die DNA aus Anspruch 4.

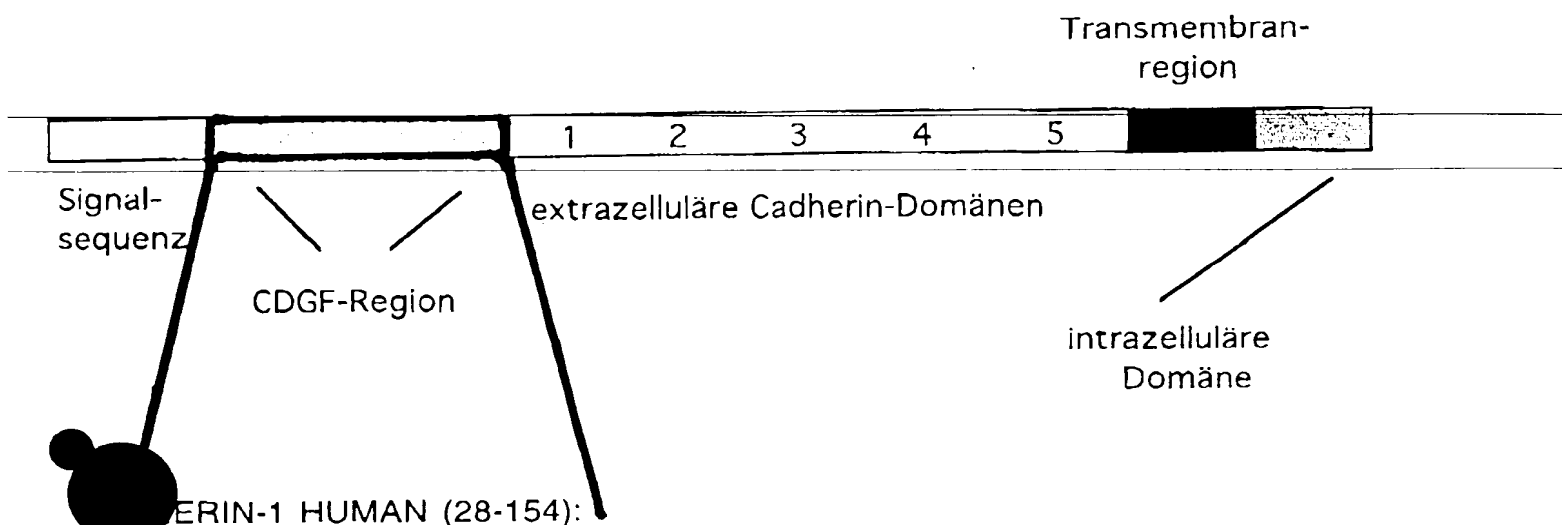
10. Eine gentechnisch manipulierte Wirtszelle enthaltend den Vektor nach Anspruch 9.
11. DNA hybridisierend mit der DNA aus Anspruch 3, die für ein Polypeptid mit CDGF Aktivität kodiert.
- ~~12. Antikörper gerichtet gegen die Polypeptide aus Anspruch 1 und Anspruch 2.~~
13. Antagonist/Inhibitor gerichtet gegen die Polypeptide aus Anspruch 1 und Anspruch 2.
14. Ein Behandlungsschema zur Behandlung von Patienten, die OB-CDGF oder Peptide nach Anspruch 2 benötigen durch Gabe therapeutischer Mengen der Polypeptide aus Anspruch 1 oder Anspruch 2.
15. Ein Behandlungsschema zur Behandlung von Patienten, die eine Inhibition des OB-CDGF oder der Peptide nach Anspruch 2 benötigen durch Gabe therapeutischer Mengen eines Antagonisten/Inhibitors.
16. Eine galenische Formulierung bestehend aus Polypeptiden nach Anspruch 1 oder Anspruch 2 und einem verträglichen Carrier
17. Die Methode aus Anspruch 8 und 9 wobei eine therapeutische Wirkung des Polypeptids durch die Gabe von DNA kodierend für das Polypeptid und seine Expression *in vivo* beim Patienten erreicht wird.
18. Verfahren zur Herstellung eines OB-CDGF gemäß Anspruch 1 und der Peptide nach Anspruch 2 durch Extraktion von Hämofiltrat durch Kationenaustauscher-Extraktion mit nachfolgender Elution der adsorbierten Substanzen, eine erneute Kationenaustauscher-Chromatographie des die Peptide enthaltenden Extraktes sowie mehrstufige Umkehrphasen-Chromatographie.
19. Verfahren zur Herstellung eines OB-CDGF gemäß Anspruch 1 und den Peptiden nach Anspruch 2 durch Festphasensynthese im Sinne der Merrifield-Synthese sowie Flüssigphasensynthese nach dem Fachmann bekannten Methoden mit geschützten Aminosäuren und dessen Aufreinigung.
20. Verfahren zur Herstellung eines OB-CDGF gemäß Anspruch 1 und Peptiden nach Anspruch 2 durch dem Fachmann bekannte Verfahren der heterologen Expression mittels gängiger biotechnologischer Vektoren.

21. Diagnostikmittel der Stoffe nach Anspruch 1 und Anspruch 2 enthaltend poly- oder monoklonale Antikörper gegen die Peptide nach Anspruch 1 oder Anspruch 2 oder mit der für die Peptide kodierenden Nukleinsäure oder mRNA.
22. Diagnostikmittel enthaltend die Stoffe nach Anspruch 1 und Anspruch 2 für Testsysteme zur Kontrolle von Gewebe-, Plasma-, Urin- und Liquor cerebrospinalis-Spiegeln dieser Substanzen.
-
23. Diagnostikmittel enthaltend die Stoffe nach Anspruch 1 und Anspruch 2 als Marker für Funktionsstörungen des Knochens, der Muskeln, der Gefäße, des Nervensystems, der Lymphorgane, des Magen-Darmtraktes, des Immunsystems und von Diabetes sowie inflammatorischen und neoplastischen Prozessen sowie als Marker bei Krebs.
24. Arzneimittel enthaltend die Stoffe nach Anspruch 1 oder Anspruch 2 als wirksamen Bestandteil von galenischen Formen zur oralen, intravenösen, intramuskulären, intracutanen, intrathekalen Anwendung sowie als Aerosol zur transpulmonalen Applikation.
25. Verwendung der Stoffe aus Anspruch 1 bis 10 sowie 19 und 20 zur Herstellung eines Arzneimittels zur **zur Therapie und Prophylaxe von degenerativen sowie metabolischen Erkrankungen des Knochens wie Osteoporose, Osteomalazie und Osteopenie, des Pankreas wie Diabetes mellitus, des Muskels wie Muskeldystrophien, der Gefäße, des zentralen und peripheren Nervensystems wie periphere und zentrale Neuropathien, der Lunge wie Asthma bronchiale, des Magens wie Ulcus, sowie zur zur Therapie und Prophylaxe von entzündlichen Prozessen, gestörten Entzündungsreaktionen, Tumorerkrankungen, sowie zur Wund- und Knochenheilung.**
26. Verwendung von OB-CDGF sowie der Peptide nach Anspruch 2 und der Stoffe nach Anspruch 12 und 13 zur Herstellung eines Arzneimittels **zur Therapie und Prophylaxe von degenerativen sowie metabolischen Erkrankungen des Knochens wie Osteoporose, Osteomalazie und Osteopenie, des Pankreas wie Diabetes mellitus, des Muskels wie Muskeldystrophien, der Gefäße, des zentralen und peripheren Nervensystems wie periphere und zentrale Neuropathien, der Lunge wie Asthma bronchiale, des Magens wie Ulcus, sowie zur zur Therapie und Prophylaxe von entzündlichen Prozessen, gestörten Entzündungsreaktionen, Tumorerkrankungen, sowie zur Wund- und Knochenheilung.**

Patentanmeldung OB CDGF

- Abbildung 1 (Seite 1) -

Domänenstruktur der Cadherine



CHPGFDAESYTFTVPRRLERGRVLGRVNFCTGRQRTAYFSLDTRFKVGTGVDGVITVKRPLRFHNPQI
HFLVYAWDSTYRKFKSTKVTNLNGHHHRPPPHQASVSGIQAELLTFPNSSPGLRRQKR

CADHERIN-2 HUMAN (24-159):

EASGEIALCKTGFPEDVYSVAVLSKDVHEGQPLLNVFSNCNGKRKVQYESSPADFKVDEDGMVYAV
RSFPLSSEHAKFLIYAQDKETQEKWQKLSLKPTLTEESVKESAEEIVFPRQFSKHSGHLQRQKR

CADHERIN-3 HUMAN (27-107):

CFEAEVTLAAGGAEEQEPGQALGKVFMGQEPALFSTDNDFFTNRNGETVQERRSLKERNPLKIF
PSGRHRKR

CADHERIN-4 HUMAN (21-169):

HNEDLTTRETCKAGFSEDDYTALISQNILEGKLLQVKSSCVGKTGTQYETNSMDFKGADGTVFATR
ELQVPSEQVAFTVTAWDSQTAEKWDAVLVAQTSSPHSGHKPQKGKKVVALDPSPPPKDTLLPWP
QHQNANGLRRRKR

CADHERIN-5 HUMAN (26-47):

AGANPAQRDTHSLLPTHRRQKR

Patentanmeldung OB-CDGF

- Abbildung 1 (Seite 2) -

CADHERIN-6 HUMAN (19-53):

TLSTPLSKRTSGFPAKKRALELSGNSKNEINRSKR

CADHERIN-8 HUMAN:

MLLDLWTPLIILWITLPPCIYMAPMNQSQVLMMSGSPLELNSLGEEQRILNRSKR

CADHERIN-B HUMAN (CADHERIN-11) PRECURSOR (23-53):

FAPERRGHLRPSFHGHHEKGKEGQVLQRSKR

CADHERIN-C HUMAN - BRAIN-CADHERIN PRECURSOR (24-54):

QPQPQQTLATEPRENVHLPGQRSHFQRVKR

CADHERIN-D HUMAN (CADHERIN-13) (23-138):

TDL DCTPGFQQKVFHINQPAEFIEDQSILNLTFS DCKGNDKLRYEVSSPYFKVNSDGGGLVALRNITAV
GKTLFVHARTPHAEDMAELVIVGGKDISLQDIFKFARTSPVPRQKRPSVLLLSLFSLACL

CADHERIN-F HUMAN (CADHERIN-14) (22-60):

VPGWRRPTTLYPWRRAPALSRVRRRAWVIPPISVSENHKKR